

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 03-214049

(43)Date of publication of application : 19.09.1991

(51)Int.Cl.

G01N 27/416
G01N 33/543

(21)Application number : 02-008739

(71)Applicant : KANEBO LTD

(22)Date of filing : 18.01.1990

(72)Inventor : IBARAKI SATOSHI
FUJI MICHIAKI
HORIKAWA YUKIO
NAKAYAMA HIROSHI

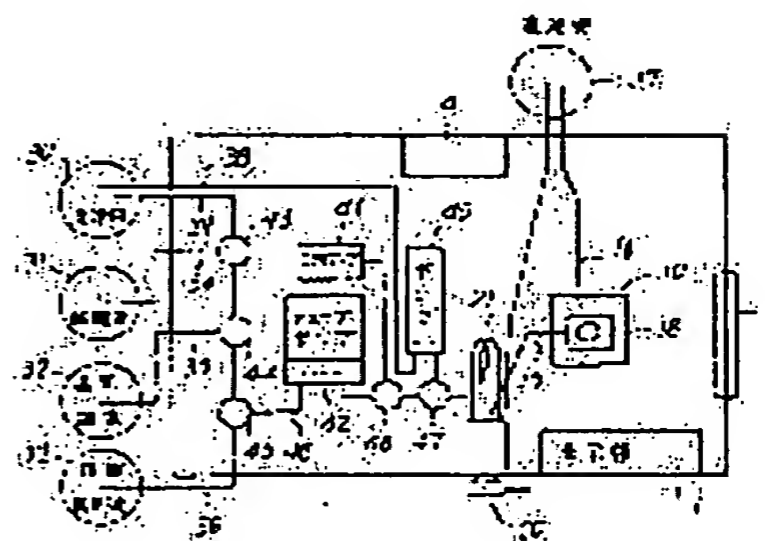
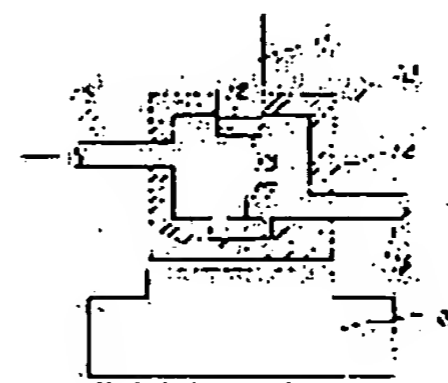
(54) METHOD AND APPARATUS FOR MEASURING IMMUNITY

(57)Abstract:

PURPOSE: To perform measurement simply, quickly, highly accurately and highly sensitively by using an electrode which is coated with the fixed film of antibody/antigen which is specifically bonded with antigen/antibody to be measured, and using an immunity sensor cell having a structure wherein each immunity measuring solution is made to pass.

CONSTITUTION: An immunity sensor cell part SC 10 is constituted as follows. The outside of an oxygen permeable film 12 is covered with an antibody fixing film 13. An oxygen electrode 11 having the oxygen permeable film 12 is attached to a cell chamber 14. An inflow pipe 15 is arranged at the upper part of the cell chamber 15. An outflow pipe 16 and magnetic rotor 17 which is rotated with a magnetic agitator 18 are arranged at the bottom part of the cell chamber 14. Then, specimen solution containing antigen (antibody) is injected 20. Then, the solution is automatically mixed or mixed/diluted with diluting solution (washing liquid) 30.

Therefore, the solution is introduced into the SC 10. The immunity reaction of the antigen and the solid-phase antibody at the first stage is performed for a specified time. Then enzyme label antibody liquid 33 is introduced into the SC 10. The second-stage reaction of the antigen which is bonded in the solid phase and the label antibody 33 is performed. Thereafter, the amount of the change of the product or the substrate when oxygen reaction substrate solution 32 is introduced into the SC 10 is detected as an electric signal. Thus the antigen/antibody in the specimen solution is measured.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

平3-214049

⑮ Int. Cl.⁵

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 平成3年(1991)9月19日

G 01 N 27/416
33/543

Z

7906-2G
6923-2G

G 01 N 27/46

3 8 6 Z

審査請求 未請求 請求項の数 12 (全11頁)

⑭ 発明の名称 免疫測定方法及び装置

⑰ 特 願 平2-8739

⑱ 出 願 平2(1990)1月18日

⑲ 発 明 者	茨 木	敏	大阪府大阪市都島区友浜町1丁目6番5-304号
⑲ 発 明 者	藤	通 昭	大阪府豊中市東豊中町5丁目2番 103棟105号
⑲ 発 明 者	堀 川	幸 雄	大阪府松原市柴垣1丁目27番12号
⑲ 発 明 者	中 山	博	大阪府枚方市東山1丁目38番5号
⑳ 出 願 人	鐘 紡 株 式 会 社		東京都墨田区墨田5丁目17番4号
㉑ 代 理 人	弁理士 安形 雄三		

明 細 書

1. 発明の名称

免疫測定方法及び装置

2. 特許請求の範囲

1. 検体溶液中の測定の対象となる抗原又は抗体と特異的に結合する抗体又は抗原を固定化した固定化膜で被覆された電極が装荷され、免疫測定に必要な各溶液類を通液し得る構造の免疫センサー・セル部を用いた免疫測定方法において、検体注入部より注入した前記検体溶液を希釈溶液と自動的に一定比率で混合、希釈した後、又は混合、希釈するために前記免疫センサー・セル部に導入して一段目免疫反応を行ない、標識抗体液又は標識抗原液を前記免疫センサー・セル部に導入して二段目免疫反応を行ない、その後前記免疫センサー・セル部に酵素反応基質溶液を導入したときの生成物又は基質の変化量を検出して前記検体溶液中の抗原又は

抗体を測定するようにしたことを特徴とする免疫測定方法。

2. 前記検体注入部が注入された前記検体溶液を一定量保持し得る流路部を有し、流路切換操作により送液装置を一定時間作動させ、この一定時間の間に前記検体注入部に保持された前記一定量の検体溶液を前記免疫センサー・セル部に導入すると共に一定量の希釈溶液を導入し、前記各溶液の導入プロセスを前記免疫センサー・セル部の攪拌動作を伴って行なうことにより、前記検体溶液を前記免疫センサー・セル部内において一定比率で希釈するようにした請求項1に記載の免疫測定方法。

3. 前記免疫センサー・セル部に前記検体溶液及び／又は希釈溶液が導入される直前に、前記免疫センサー・セル部内に滞留している溶液を通気により除去するようにした請求項1に記載の免疫測定方法。

4. 検体溶液中の測定の対象となる抗原又は抗体と特異的に結合する抗体又は抗原を固定化し

た固定化膜で被覆された電極が装着され、各溶液類に対しての流入口及び排出口を有する免疫センサー・セル部と、反復的に免疫測定を行なうために必要な酵素標識抗体又は酵素標識抗原試薬溶液、酵素反応基質溶液、解離液、洗浄液及び希釈溶液を定められた順序に前記免疫センサー・セル部に導入するための溶液導入手段と、前記検体溶液を注入するための検体注入部と、前記各溶液の前記免疫センサー・セル部への導入を制御すると共に、前記免疫センサー・セル部に発生される生成物量の増大又は基質量の減少に基づいて前記検体溶液中の抗原又は抗体を測定する制御演算手段とを有する免疫測定装置であって、前記検体注入部が注入された前記検体溶液を一定量保持し得る流路部を有し、流路切換操作により前記検体溶液を保持した前記流路部が前記免疫センサー・セル部に流路として連結され、前記希釈溶液を通液する流路と各種溶液を前記免疫センサー・セル部に導入する主流路とが連接する位置に設けられた第1流

9. 前記免疫センサー・セル部が、内部の溶液を攪拌できる構造を有する請求項4に記載の免疫測定装置。

10. 前記固定化膜が、前記抗体又は抗原を含む固定化した絹フィブリン膜である請求項4に記載の免疫測定装置。

11. 前記制御演算手段が、前記検体溶液注入後一連の免疫反応操作を自動的に進め、測定信号を出力すると共に、次の測定が可能な状態を準備するための機能を有する請求項4に記載の免疫測定装置。

12. 前記検体注入部の流路切換操作によって、一連の測定プロセスを自動的に進めるための起動信号を出力するようになっている請求項11に記載の免疫測定装置。

3. 発明の詳細な説明

発明の目的：

(産業上の利用分野)

本発明は、血液、血清等の検体溶液中の測定の

流路切換装置が、通気用流路と前記主流路とが連接する位置に設けられた第2流路切換装置と前記検体注入部との中間に配設されていることを特徴とする免疫測定装置。

5. 前記酵素標識抗体又は酵素標識抗原試薬溶液、酵素反応基質溶液、解離液、洗浄液を送液するための1つ又は複数の送液装置の他に、前記希釈溶液専用の送液装置を設けた請求項4に記載の免疫測定装置。

6. 前記希釈溶液専用の送液装置がシリンジポンプである請求項5に記載の免疫測定装置。

7. 前記シリンジポンプが、前記希釈溶液を外部から前記シリンジポンプ内に導入するための弁構造の流入口を持っている請求項6に記載の免疫測定装置。

8. 外部から前記シリンジポンプ内に導液するための導管が前記洗浄液の容器に接続され、前記希釈溶液として前記洗浄液が用いられるようになっている請求項7に記載の免疫測定装置。

対象となる抗原又は抗体と特異的に結合する抗体又は抗原を固定化した固定化膜で被覆された電極が装着され、免疫測定を行なうのに必要な各溶液類を通液し得る構造となっている免疫センサー・セル部を利用し、測定の精度、感度に優れると共に操作も簡便なサンドイッチ二段免疫測定の方法及び装置に関する。

(従来の技術)

免疫測定は、ホルモン、ウイルス、酵素や腫瘍マーカーとしての蛋白質、薬物、母物などの体中の濃度から微量で構造が類似しているため区別が付き難い物質の高感度且つ選択的な定量法として、診断、血中濃度モニタ、環境検査や農産物、水産物の検査などに有効に用いられるに至っている。

免疫測定の方法としては従来より多くの方法が開発されているが、酵素で標識された抗体や抗原を用いるEIA (エンザイム イムノ アッセイ) 法は感度が高く、信頼性も高いことから最近多く用いられるに至っている。しかし、このEIA法は

一般に測定時間が1～2時間と長く、又操作が複雑なことから自動化装置が各種開発されるに至ったが、効率化の点や検出デバイスとして高価な分光光度計、蛍光光度計を用いることから、大型の多検体処理装置として開発されているのが実情である。これに対し、抗体などを固定化した膜で被覆した電極（免疫センサー）を検出デバイスとすると、短時間に高感度な測定ができるばかりでなく、検出デバイスが小さく且つ安価であるため、小型の測定装置の開発が可能になる。

本発明者らは、先に特開昭63-117253号において、抗体を包括固定化したフィブリン膜を酸素電極に装着したEIA用の免疫センサーを提案している。かかる免疫センサーを使用すれば、一検体測定後に結合した抗原又は抗体を解離させ、固定化抗体又は抗原膜を再生使用することが可能であるため、固定化膜を交換することなく数十回の繰り返し測定ができ、操作的にも迅速、簡便な免疫測定装置を構成することができる。

（課題を解決するための手段）

本発明は、検体溶液中の測定の対象となる抗原又は抗体と特異的に結合する抗体又は抗原を固定化した固定化膜で被覆された電極が装着され、免疫測定に必要な各種液類を通液し得る構造の免疫センサー・セル部を用いた免疫測定方法に関するもので、本発明の上記目的は、検体注入部より注入した前記検体溶液を希釈溶液と自動的に一定比率で混合、希釈して後、又は混合、希釈するために前記免疫センサー・セル部に導入して一段目免疫反応を行ない、標識抗体液又は標識抗原液を前記免疫センサー・セル部に導入して二段目免疫反応を行ない、その後前記免疫センサー・セル部に酵素反応基質溶液を導入したときの生成物又は基質の変化量を検出して前記検体溶液中の抗原又は抗体を測定することによって達成される。また、免疫測定装置は、検体溶液中の測定の対象となる抗原又は抗体と特異的に結合する抗体又は抗原を固定化した固定化膜で被覆された電極が装着され、各液液類に対しての流入口及び排出口を有

（発明が解決しようとする課題）

しかし、例えば特開昭63-117253号に開示されているような免疫センサーを用いて実際に測定装置を構成する場合、その感度、精度や繰り返し測定における安定性などの測定性能は、装置の構成の仕方によって大きく影響されるばかりでなく、測定操作上においても検体溶液を一定量採取し、酵素標識抗体又は酵素標識抗原試薬溶液と一定比率で混合したり、或いは一定比率で定量的に希釈した後に免疫センサー・セル部に注入しなければならず、準備上の複雑さの面で問題があった。

本発明は上記問題点を解決するためになされたものであり、本発明の目的は、繰り返し使用可能な免疫センサーを検出デバイスとして用いると共に、操作上著しく簡便にしかも迅速、高精度、高感度な測定を行なうための二段免疫測定の方法と、これを実現するための免疫測定装置を提供することにある。

発明の構成：

する免疫センサー・セル部と、反復的に免疫測定を行なうために必要な酵素標識抗体又は酵素標識抗原試薬溶液、酵素反応基質溶液、解離液、洗浄液及び希釈溶液を定められた順序に前記免疫センサー・セル部に導入するための溶液導入手段と、前記検体溶液を注入するための検体注入部と、前記各溶液の前記免疫センサー・セル部への導入を制御すると共に、前記免疫センサー・セル部に発生される生成物量の増大又は基質量の減少に基づいて前記検体溶液中の抗原又は抗体を測定する制御演算手段とを有する免疫測定装置であって、前記検体注入部が注入された前記検体溶液を一定量保持し得る流路部を有し、流路切換操作により検体溶液を保持した前記流路部が前記免疫センサー・セル部に流路として連結され、前記希釈溶液を通液する流路と各種溶液を前記免疫センサー・セル部に導入する主流路とが接続する位置に設けられた第1流路切換装置が、通気用流路と前記主流路とが接続する位置に設けられた第2流路切換装置と前記検体注入部との間に配設され

ることによって、本発明の上記目的は達成される。

(作用)

本発明の方法によれば、予め検体溶液を定量したり、一定比率で定量的に希釈、混合するという前処理は必要でなく、検体溶液を装置に注入するだけの著しく簡便な操作で測定を自動的行なうことができる。本発明では特に高濃度検体溶液に対応できるように、注入した検体溶液を希釈溶液と自動的に一定比率で混合、希釈した後に免疫センサー・セル部に導入し、一段目免疫反応を行なう。次いで酵素標識抗体又は酵素標識抗原試薬溶液を免疫センサー・セル部に導入し、二段目免疫反応を行なうようにしている。

本発明の免疫測定方法及び装置による測定操作の手順を、ある特定の抗原を、これに対する抗体を固定化した固定化膜を装着した免疫センサーを用いてサンドイッチ法で測定する場合により、第1図～第5図を参照して以下に説明する。

第1図は本発明装置の概略構造を示しており、

115Aを検体注入部108に導入するようになっている。免疫センサー・セル部100で生成された物質量の増大又は基質量の減少に応じた電気信号を演算部140に入力して、検体溶液中の抗原又は抗体量を演算して表示又は記録するようになっている。第2図はその動作例を示しており、第3図は免疫センサー・セル部100の内部における抗体、抗原及び酵素標識抗体の状態を段階的に示している。

このような構成において、先ず免疫センサー・セル部100に免疫センサーを装着する。免疫センサーには、第3図の(A)の如く酸素透過膜121の外側に抗体固定化膜122を被膜した酸素電極120が好適に用いられる(ステップS1)。そして、ポンプ104を作動させて容器101から洗浄液101Aを約1分間導入し(ステップS2)、エアポンプ109でエア通気を約20秒間行ない(ステップS3)、第3図の(A)の如き待機状態となる。

そして、第3図の(B)のように抗原を含む検体溶液を検体注入部108より装置に注入すると(ス

免疫センサー・セル部100は導管によって検体注入部108より検体溶液(血液、血清)及び希釈溶液を導入するようになっており、容器101～103にはそれぞれ洗浄液101A、解離液102A、酵素反応基質溶液103Aが収容されている。洗浄液101Aはバルブ(流路切換弁)105及び106を介して、解離液102Aはバルブ105及び108を介して、酵素反応基質溶液103Aはバルブ108を介してそれぞれポンプ(送液装置)104によって、検体注入部108を経て免疫センサー・セル部100に導入されるようになっており、その中途部にはバルブ107、111及び114が配設されている。バルブ107にはエアポンプ109が接続されており、検体注入部108及び免疫センサー・セル部100をエア通気できるようになっている。また、バルブ111にはポンプ112が接続されており、容器113に収容されている標識抗体試薬溶液113Aを検体注入部108を経て免疫センサー・セル部100に導入するようになっている。さらに、バルブ114にはポンプ116が接続されており、容器115に収容されている希釈溶液

テップS10)、注入された検体溶液は装置内で自動的に希釈溶液115Aと一定比率で混合され(ステップS11)、ポンプ104によって免疫センサー・セル部108に導入される。この混合方法としては、検体溶液のみを一定量計量して注入した後、希釈溶液を定量ポンプにより一定量送液して混合する方法や、一般的に希釈装置(ダイリューター)として用いられている混合方法によれば良い。例えば検体注入部108が注入された検体溶液を一定量保持し得る流路部108Aを有し、流路切換操作によりポンプ104を一定時間作動させ、この時間の間に検体注入部108の流路部108Aに保持された一定量の検体溶液を免疫センサー・セル部100に導入すると共に、続いて一定量の希釈溶液115Aをポンプ116で導入し、これら各溶液の導入プロセスを免疫センサー・セル部100の攪拌動作の下に行なうことにより、検体溶液を免疫センサー・セル部100内において一定比率で希釈することができ、この方法によれば、検体溶液量がある程度以上であれば特に定量する必要もなく、装

機構成上も簡単な構造で済むため極めて好ましいものである。この場合、希釈溶液115Aに対しては、酵素標識抗体溶液113A、解離液102A、酵素反応基質溶液103A、洗浄液101Aを送液するための1つ又は複数のポンプ104,112とは異なる専用のポンプ(送液装置)116を設けることが精度面から好ましい。即ち、このような測定方法の場合、検体溶液又は希釈溶液115Aの導入に先立ち、免疫センサー・セル部100及びその周辺の導管や検体注入部108にエアポンプ109でエア通気を行ない、滞留した不要な溶液を除去しておくことが精度、信頼性の面から好ましい。そして、希釈溶液専用のポンプ116を用いれば、希釈溶液115Aを通液する流路が各種溶液を免疫センサー・セル部100に導入する主流路に連がる所に設けられたバルブ114を、通気用流路が主流路に通がる所に設けられた107と検体注入部108の中間に位置するような装置構成とし得るため、検体溶液と希釈溶液115Aとが免疫センサー・セル部100内において強留溶液の混合を受けることなく、正しく一定比率

液113Aを第3図(F)の如く通液し(ステップS20)、一定時間(例えば1~2分)固相に結合した抗原と標識抗体との免疫反応(二段目免疫反応:第3図(G)参照)を行ない(ステップS21)、その後に再度洗浄液101Aを約1分間通液し(ステップS22)、余剰の酵素標識抗体を洗浄、除去し、約20秒エア通気すると第3図(H)の状態となる(ステップS23)。ここで、標識用酵素としてはカタラーゼが好適である。

次いで、バルブ108を切換えて酵素反応基質溶液(過酸化水素水)103Aを約20秒通液し、第3図(I)の状態とする(ステップS24)。この酵素反応基質溶液103Aを導入する直前にも検体溶液の導入前と同様の通気処理を行ない(ステップS23)、残留している不要な溶液類を除去しておくことが精度の点から好ましい。ここでは、基質溶液103Aとして酵素カタラーゼに対する基質として、過酸化水素水を用いている。この酵素反応基質溶液103Aの導入ステップS24の後、抗原量に応じた生成物(酸素)を約1分間発生させると共に(ス

で混合するような装置系とすることができる。

上記目的のための専用のポンプとしてはシリンジポンプが好適に用いられるが、希釈溶液を外部からシリンジ内に導液するための弁構造の流入口を持つシリンジポンプを使用すれば、シリンジ内に連続的に希釈溶液を供給することが可能となる。希釈溶液として洗浄液を用いる場合には、外部からシリンジ内に導液するための導管を洗浄液の容器に、主流路とは別ラインとして接続すれば、簡便なシステムを構成することができる。

上述のように希釈された検体溶液をポンプ104で免疫センサー・セル部100に送液し、第3図の(C)のように一定時間(例えば1~2分)抗原-固相抗体の免疫反応(一段目免疫反応)を行なって第3図(D)とした後(ステップS12)、洗浄液101Aを約1分間通液して、固相抗体に結合しなかった抗原をセル室より洗浄、除去する(ステップS13)。その後、エアポンプ109でエア通気を約20秒間行なうと第3図(E)の状態となる(ステップS14)。次いでポンプ112で酵素標識抗体溶

液113Aを第3図(F)の如く通液し(ステップS20)、一定時間(例えば1~2分)固相に結合した抗原と標識抗体との免疫反応(二段目免疫反応:第3図(G)参照)を行ない(ステップS21)、その後に再度洗浄液101Aを約1分間通液し(ステップS22)、余剰の酵素標識抗体を洗浄、除去し、約20秒エア通気すると第3図(H)の状態となる(ステップS23)。ここで、標識用酵素としてはカタラーゼが好適である。

次いで、バルブ108を切換えて酵素反応基質溶液(過酸化水素水)103Aを約20秒通液し、第3図(I)の状態とする(ステップS24)。この酵素反応基質溶液103Aを導入する直前にも検体溶液の導入前と同様の通気処理を行ない(ステップS23)、残留している不要な溶液類を除去しておくことが精度の点から好ましい。ここでは、基質溶液103Aとして酵素カタラーゼに対する基質として、過酸化水素水を用いている。この酵素反応基質溶液103Aの導入ステップS24の後、抗原量に応じた生成物(酸素)を約1分間発生させると共に(ス

次に、結合した抗原を固定化抗体より解離させるための溶液である解離液102Aをバルブ106を切換えて免疫センサー・セル部100に約20秒通液し(ステップS26)、第3図の(J)の如く抗原を解離して固定化抗体を再生する解離反応を約2分20秒間行なって後(ステップS27)、再び洗浄液101Aを約1分間通液し(ステップS28)、解離液102Aを十分に置換、洗浄し、エアポンプ109で約20秒エア

通気（ステップS29）して次の測定に備える。なお、解離液102Aとしては通常酸性の緩衝液を用いるが、標識酵素であるカクラーゼやある種の抗原は解離液102Aに対して著しく不安定であるため、酵素反応ステップ（ステップS25）で測定信号を得る以前の段階で免疫センサー・セル部100に解離液102Aが混入すると正しい測定値が得られない。

ステップS12及びS21の各免疫反応時間を更に長くとることにより、高感度に測定できる。また、解離反応ステップS27において固相抗体と抗原との結合解離が遅い場合には、解離反応時間を延長することにより完全な再生が可能になる。

ところで、本発明の免疫センサー・セル部100のセル室の容積は微小であるため（例えば0.2ml）、セル室と配管との間に隔壁を設けることはできるが、構造的には複雑となり有利でない面もある。そこで、隔壁を設けない場合、特に免疫反応時にあっては実際の反応体積としてセル室容積に加え、セル室付近の配管内容積も考慮しな

状態で行なうことが好ましいが、検体溶液と希釈溶液との免疫センサー・セル部100での混合及び免疫反応（ステップS12、S21）、洗浄（ステップS13、S22、S28）、解離（ステップS27）の各ステップでは、攪拌を行なうことにより反応を均一に進めると共に、洗浄不足等に起因するバラツキを抑え、再現性の高い測定結果を得ることができる。また、免疫センサー・セル部100及びこれに接続された導管部は恒温系中に設置されていることが好ましい。なお、免疫センサー・セル部100で検体溶液と標識抗体試薬溶液113Aを混合する場合には、検体注入部108は、検体溶液及び試薬混合溶液の濃度変化を避けて高精度の測定結果を得るため、流路系において最も免疫センサー・セル部100に近い位置に配設することが好ましい。

本発明では、抗体（又は抗原）固定化膜122を数十回に亘り繰り返し使用できることが特徴であり、固定化膜122としては、物性的に酵素透過性を有し、抗体（又は抗原）を安定に固定化でき、免疫測定に適用できるものであれば特に限定

しなければならない。接続配管からの異種溶液の混入による汚染効果や影響を防ぎ、精度の高い測定を可能にするためには、セル室に接続される流入配管は1本だけであることが好ましい。従って、検体溶液のほかにも測定に用いる4種類の溶液は共通流路を通液することになるが、解離液102Aの混入等による酵素カクラーゼや抗原の失活を防ぎ正しい測定値を得るためには、各種溶液の共通流路には必ず洗浄液101Aを通液し得る流路系を構成できるように各溶液の容器を配設すれば良い。また、流路系及びセルを構成する材質は、酵素反応基質溶液103Aの主成分である過酸化水素水を分解したり、又逆に腐食を受けて反応系に影響を与えるものであってはならない。そうした材質としては、テフロン系、シリコン系、アクリル系や塩化ビニール系等の有機系高分子材質の他、金属ではSUS-316が好ましい。

本発明の免疫センサー・セル部100は、セル室の溶液を攪拌できる構造を有することが非常に好ましい。酵素反応ステップ（ステップS25）は静止

はないが、抗体（又は抗原）を包括固定化した絹フィブリン膜であることが好ましい。また、本発明による一連の測定操作は、ポンプと流路切換弁（バルブ）等の操作、セル室の攪拌の作動調節等により進めることができるが、簡便化と共に均一な操作によって高精度な結果を得るためには、免疫反応から酵素反応により測定信号を得た後、解離反応を経て次の測定（検体注入）が可能な待機状態（ステップS4）を準備するまでのプロセスを自動的に進める制御手段が必要である。そのための検体注入部108として三方弁を用い、注入口からセル室への流路を形成した後に検体溶液を直接セル室へ注入し、同時に自動操作プログラムを起動させる方法も適用できる。また、検体注入部108として注入された検体溶液を保持し得る流路部108Aを有し、流路切換操作によりポンプ104を一定時間作動させ、検体溶液及び希釈溶液を一定比率で混合して免疫センサー・セル部100に導入すると同時に、一連の測定プロセスを自動的に進めるための起動信号を与える方式のものを適用

することにより、一層簡便で確実な測定装置とすることができる。

(実施例)

以下、本発明を図面に示す実施例に基づいて説明する。

第6図は本発明の免疫センサー・セル部10の構造例を示しており、酸素電極11には酸素透過膜12及びフィブリン膜の抗体固定化膜13が被覆され、容積約0.2mlのセル室14に取付けられている。セル室14の上部には流入管15が接続され、セル室14の底部には排出管16が接続されると共に、底面凹部には磁気攪拌器18の作動によって回転する磁気回転子17が配設されている。

第7図は装置の正面外観図であり、中央部には検体注入部20が設けられ、ノブ22の回動によって流路切換を行なうようになっており、右上部には表示部1が、左下部には電源スイッチ2及び選択スイッチ3がそれぞれ配設されている。装置内部は水平仕切板により上部、下部に区切られており、下部空間には電源部、制御部及び演算部が設

42の作動及び電磁弁43~47の切換によって、各溶液及び注入検体溶液は検体注入部20からセル室14に至る1本の配管を通してセル室14に導入されるようになっている。また、注入時の余剰検体溶液及びセル室14を経由した廃液を入れるための廃液瓶37が設けられている。又、上記のように各試薬瓶30~33を配設することにより、流路切換用の電磁弁43からセル室14に至る共通流路に洗浄液を通液することができる。

図の様にエアポンプ41を電磁弁46に接続することにより、電磁弁46から廃液瓶37に達するまでの流路上にある配管、検体注入部20、セル室14内に滞留する各種溶液を、エア通気により除去することができるため、微量検体溶液であっても滞留液による希釈を受けることなく、高感度、高精度の測定が可能になる。検体注入部20は、流路系の中でチューブポンプ42や電磁弁43~47に対し、最もセル室14に近い位置となるように構成されており、検体注入部20からセル室14に至る配管体積を微小なものにすることにより、精度の高い測定を

置されている。

第8図は、装置の水平仕切板上又はその上部に配置されている装置構成を上方から見た場合の図である。本例の検体注入部20は溶液を一定量保持する保持用ループ21を有している。また、希釈溶液注入用のポンプとして、注入精度が非常に高かつ試薬瓶30から希釈溶液として洗浄液を導入する弁構造を有するシリンジポンプ40を有している。配管38は洗浄液用試薬瓶30とシリンジポンプ40の接続用であり、通気用ポンプとしてエアポンプ41を有し、定量送液装置としてチューブポンプ42を有している。試薬瓶31には解離液が、試薬瓶32には酵素反応基質溶液（過酸化水素）が、試薬瓶33には酵素標識抗体（抗原）溶液がそれぞれ収容され、各液は取込管34~36を介して、試薬瓶30内の洗浄液は取込管39を介してそれぞれ装置内に取込まれ、流路管48を介して検体注入部20を経て、その後に免疫センサー・セル部10に送液される。そして、流路管48の中途部には流路切換のための電磁弁43~47が設けられており、ポンプ40~

可能にしている。また、装置の水平仕切板上部は、恒温系となるよう加熱用ヒータ及びファン4が設置されており、エアバス方式で温度調節を行なうようになっている。

実際の測定に関しては、検体注入部20より検体溶液の注入を行なう。注入された検体溶液は一旦保持用ループ21に保持される。本例の検体注入部20はノブ22の回動による流路切換操作により、ループ21がチューブポンプ42から注入部20を経てセル室14に至る主流路に接続挿入される構造を有しているため、切換操作と共にシリンジポンプ40を駆動し、続く一連の測定操作プログラムを起動するようにしておけば、ループ21に保持されている検体溶液はセル室14に導入され、その後のステップは正しく時間管理されることになる。本例では、これら一連の操作プログラムを進める制御手段を有し、免疫測定の各ステップは正確、均一に進められ、また酵素反応で測定された信号は、演算部で処理されて検体中濃度として表示されるようになっている。演算部の検量線は、固定化膜

13を交換する毎に標準検体を測定することにより校正される必要があるが、選択スイッチ3は、こうした校正モードと測定モードを選択するためのスイッチである。更に、免疫センサーの抗体(又は抗原)固定化膜13は免疫センサー・セル部10から電極部を脱着し、容易に交換、再装着することが可能である。こうした操作は、装置側面の扉5を開けることにより容易に行なうことができる。

第9図は装置内の構成例を示しており、CPU等で成る制御部50及び演算部51を有し、温度センサ53の計測値はA/D変換器54でデジタル値に変換されて制御部50に入力され、ファン及びヒータ4で温度制御するようになっている。また、免疫センサー・セル部10で発生する酵素量に応じた電気信号を出力する免疫センサー55の計測値は、A/D変換器56でデジタル値に変換されて演算部51に入力され、演算部51はメモリ52に記憶されているデータベースに基づいて抗原又は抗体の濃度を演算し、制御部50を介して表示部1に結果を表示し

24Bによって連結されと同時に希釈溶液(洗浄液)を送液するシリンジポンプ40を一定時間作動させ、ループ21内の検体溶液を希釈溶液(洗浄液)と共にセル室14に送液することができる。

上述のような免疫測定装置の各部のタイムチャートは第12図のようになっている。制御部50が自動的に制御するようになっている。時点 T_1 の注入開始信号(同図(A))が入力されることによって検体溶液を検体注入部20より注入すると共に(同図(B))、シリンジポンプ40で洗浄液を送液する(同図(D))。そして、標準抗体液、基質溶液、解離液の送りはそれぞれ第12図(C)、(E)、(F)のようなタイミングで行ない、エアポンプ41による通気は同図(G)に示すタイミングで行なう。また、磁気攪拌器18及び磁気回転子17による攪拌は第12図(H)に示すタイミングで行ない、酵素反応時には攪拌しないようになっている。演算部51による検取演算は、第12図(I)のように基質溶液送液中及びその後の時間 $T_2 \sim T_3$ の間に行なう。

たり、出力部57で記録して出力するようになっている。さらに、制御部50には選択スイッチ3の選択信号が入力されており、制御部50は電磁弁43~46、ポンプ40~42等を制御するようになっている。

次に、第10図(A)、(B)及び第11図を参照して検体注入部20を説明すると、検体注入部20はオペレータがロータ24を回動するためのノブ22を有しており、検体溶液を装置表面側より注入するための注入口23が設けられている。ロータ24には注入口23に接続された注入管27が配設されており、ステータ25にはループ21が接続されると共に、ステータ25及びロータ26の対向面にはそれぞれシール26された6個ずつの弁口が設けられ、ロータ24側の弁口には第10図(A)で示すように弁口1及び6、弁口2及び3を連結する連結管24A、24Bが設けられている。したがって、第10図(A)の状態では注入口23から検体溶液を注入してループ21に一定量保持した後、ノブ22を回動することによって同図(B)のように弁口1-2、3-4が連結管24A、

発明の構成:

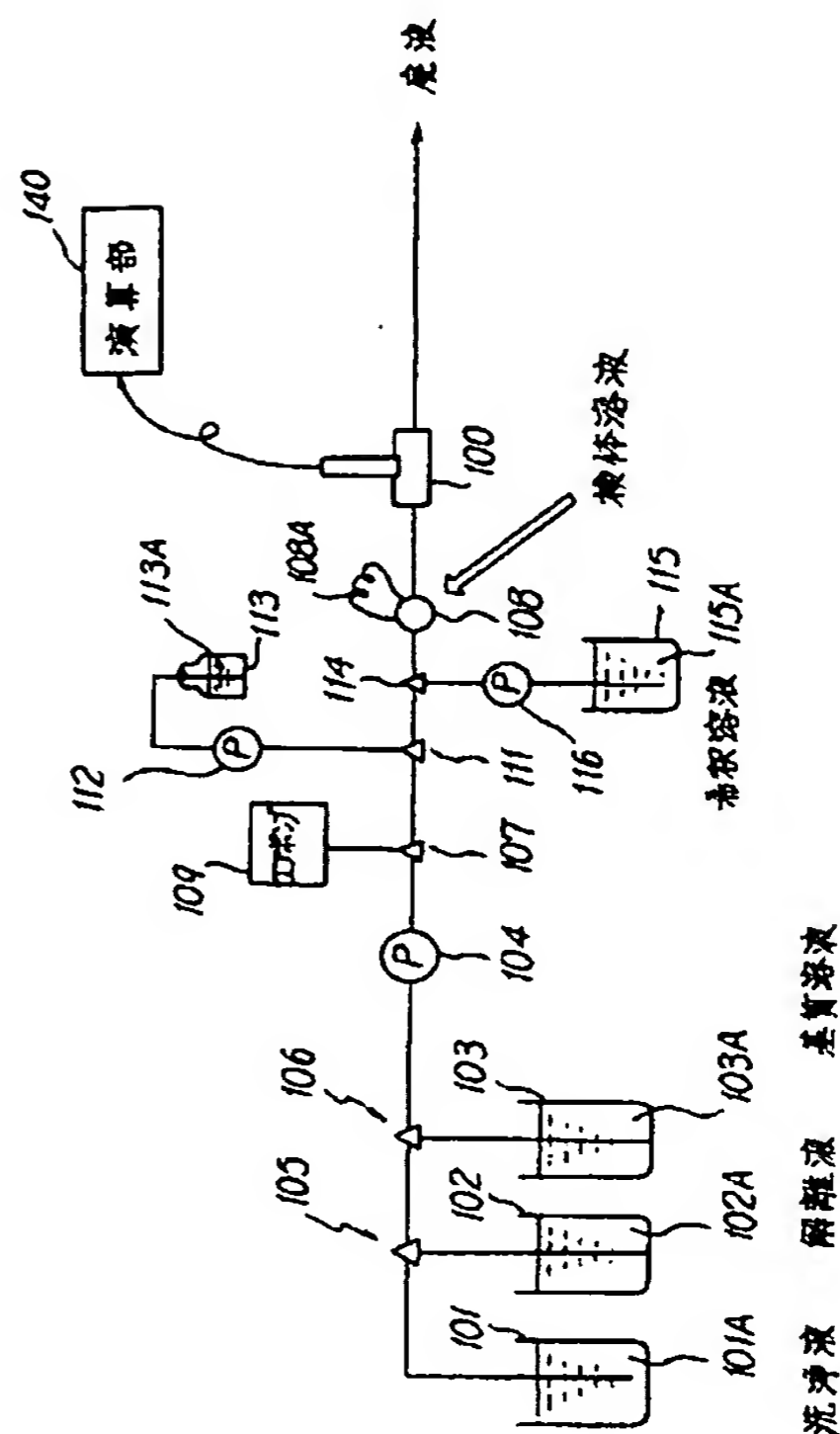
以上に述べた本発明の免疫測定方法及び装置は、高濃度の検体溶液に対して著しく簡便な操作で高感度且つ高精度の免疫測定を可能にするものである。又、測定に要する時間も通常数分であり、迅速測定に対応できることから、医療現場等の有用性は極めて高いものである。

4. 図面の簡単な説明

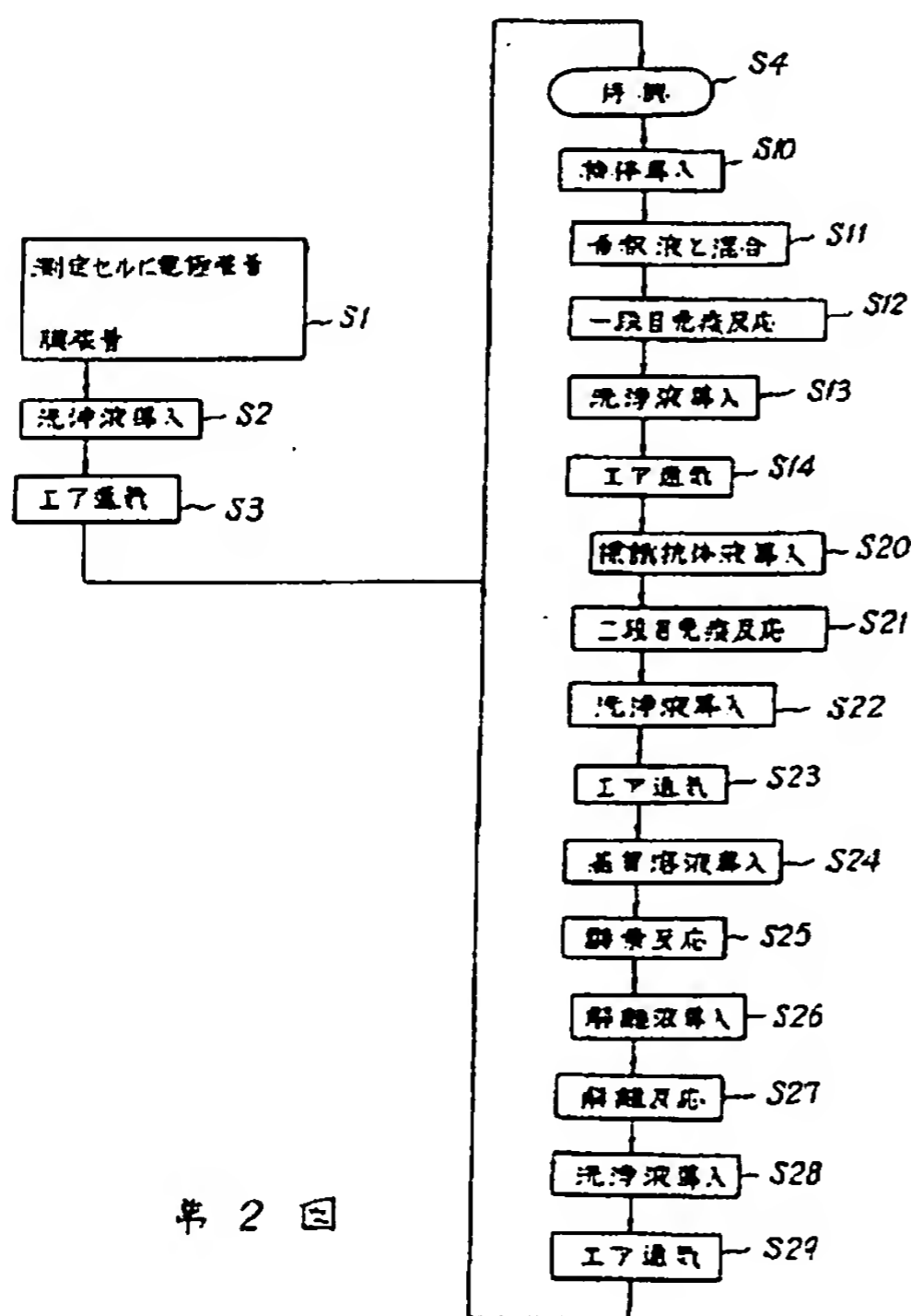
第1図は本発明の測定原理を説明するための図、第2図はその動作例を示すフローチャート、第3図は免疫測定の様子を示す図、第4図は抗原濃度と出力との関係を示す図、第5図は免疫測定の時間と出力の関係を示す図、第6図は本発明に用いる免疫センサー・セル部の一例を示す構造図、第7図は免疫測定装置の正面図、第8図はその内部構造図、第9図は回路系のブロック構成図、第10図(A)、(B)は検体注入部の動作図、第11図は検体注入部の構造図、第12図は本発明の動作例を示す各部のタイミングチャートである。

1…表示部、4…ファン及びヒータ、10,100…
免疫センサー・セル部、11,120…酸素電極、13、
122…抗体固定化膜、14…セル室、17…磁気回転
子、18…磁気攪拌器、20,100…検体注入部、21…
ループ、22…ノブ、30…試薬瓶（洗浄液）、31…
試薬瓶（解離液）、32…試薬瓶（基質溶液）、
33…試薬瓶（標識抗体液又は標識抗原液）、37…
廃液瓶、40…シリンジポンプ、41…エアポンプ、
42…チューブポンプ、43～47…電磁弁、48…流路
管、50…制御部、51…演算部、52…メモリ、53…
温度センサ、55…免疫センサ。

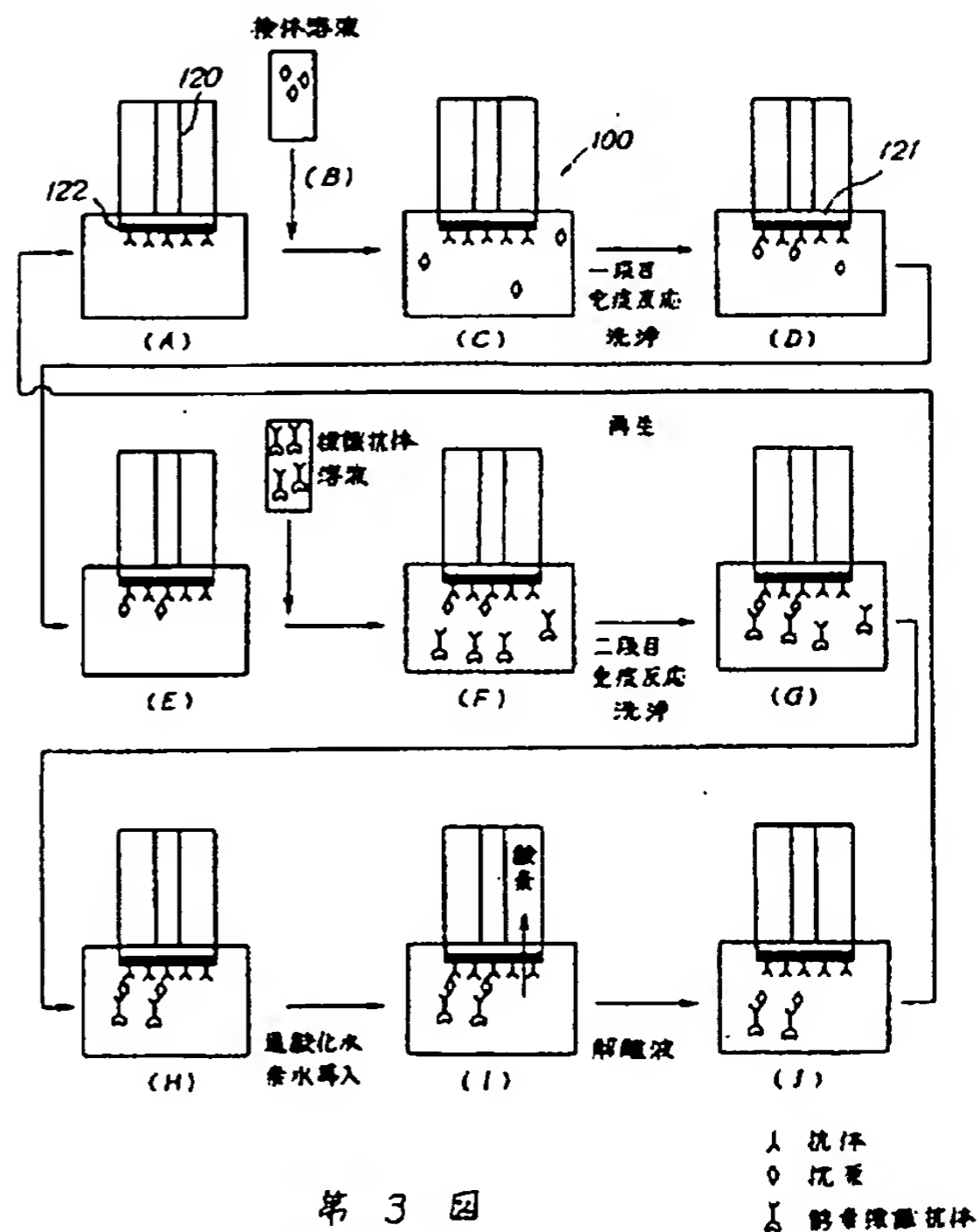
出願人代理人 安形 雄 三



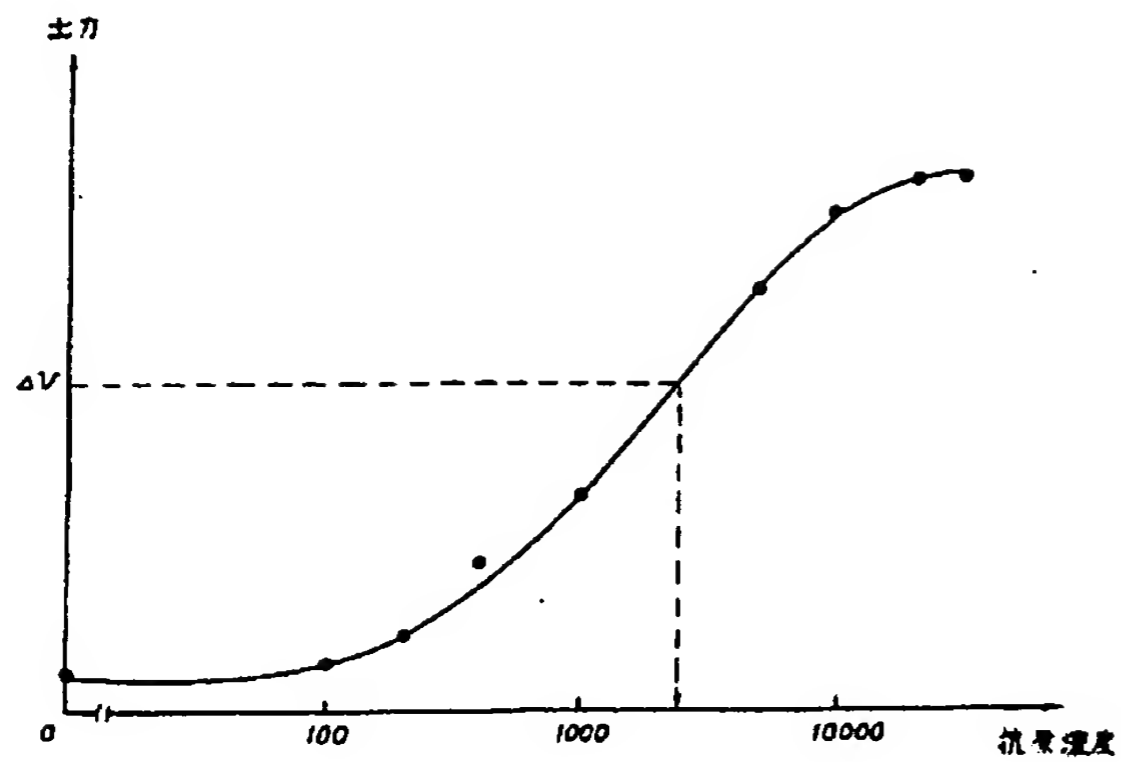
第 1 図



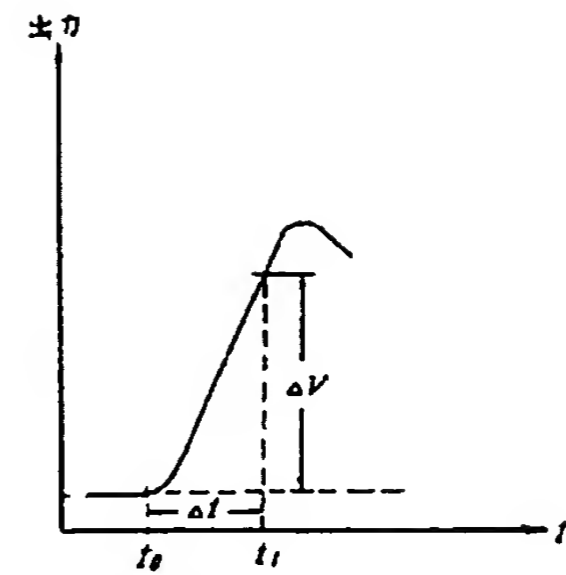
第 2 図



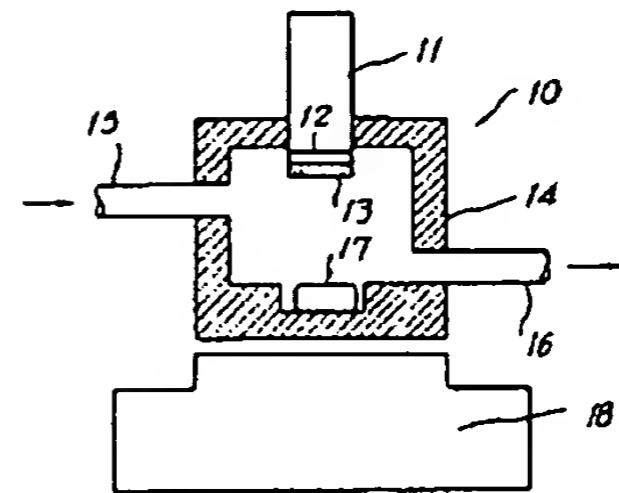
第 3 図



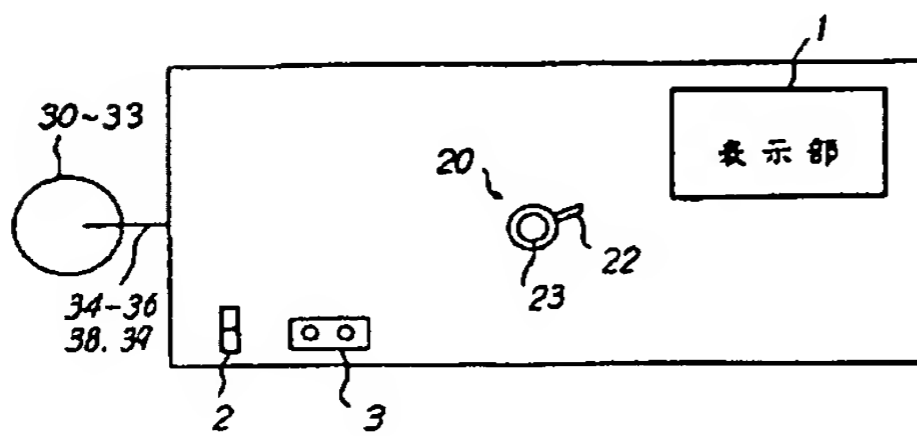
第 4 図



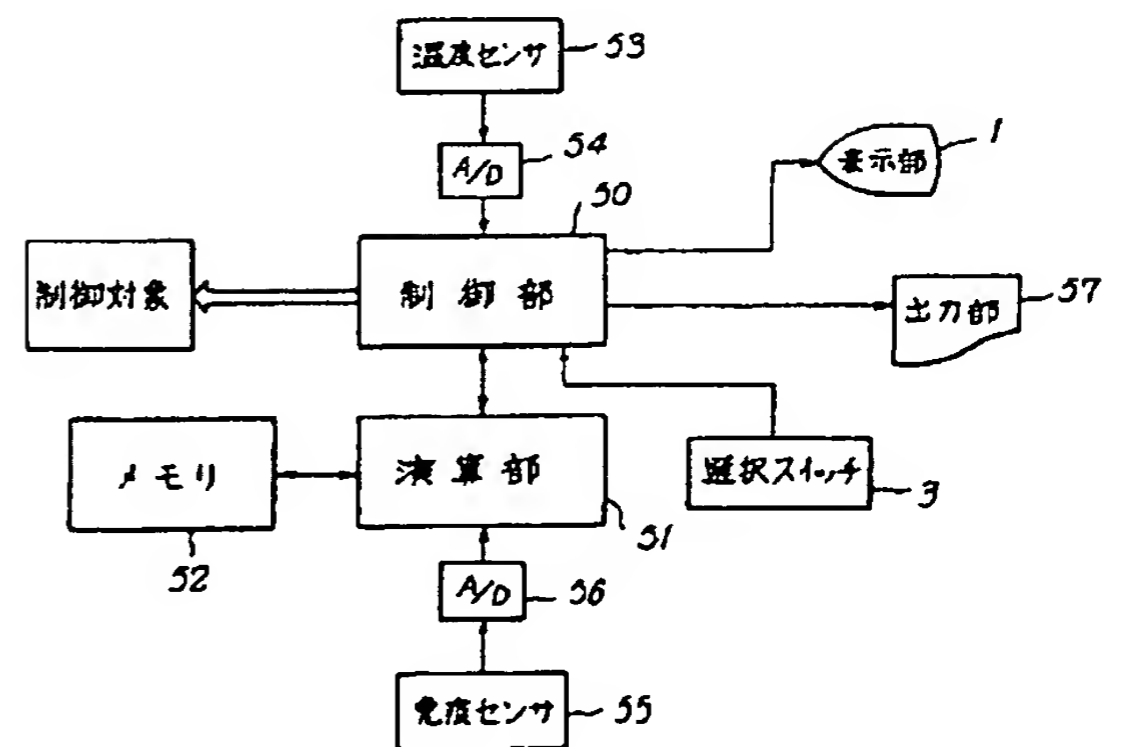
第 5 図



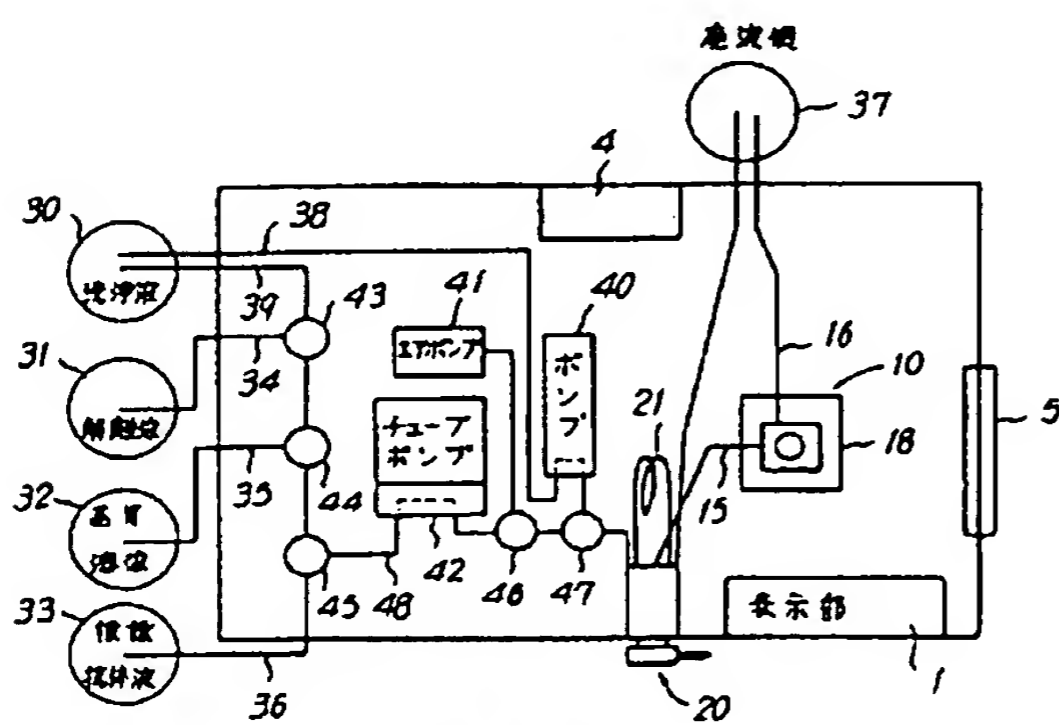
第 6 図



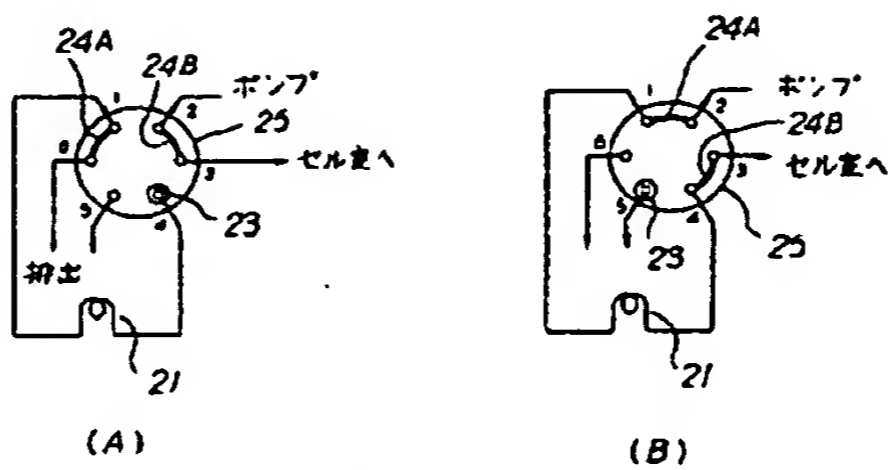
第 7 図



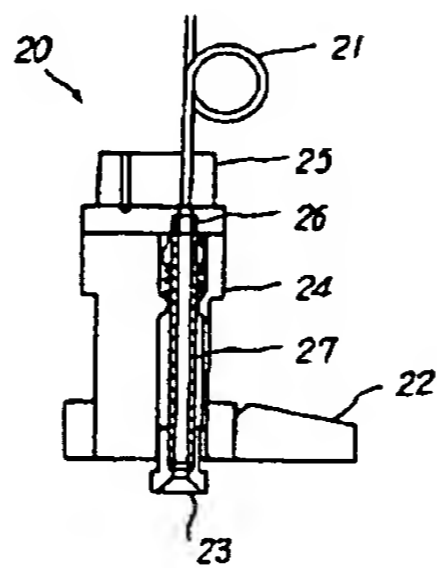
第 9 図



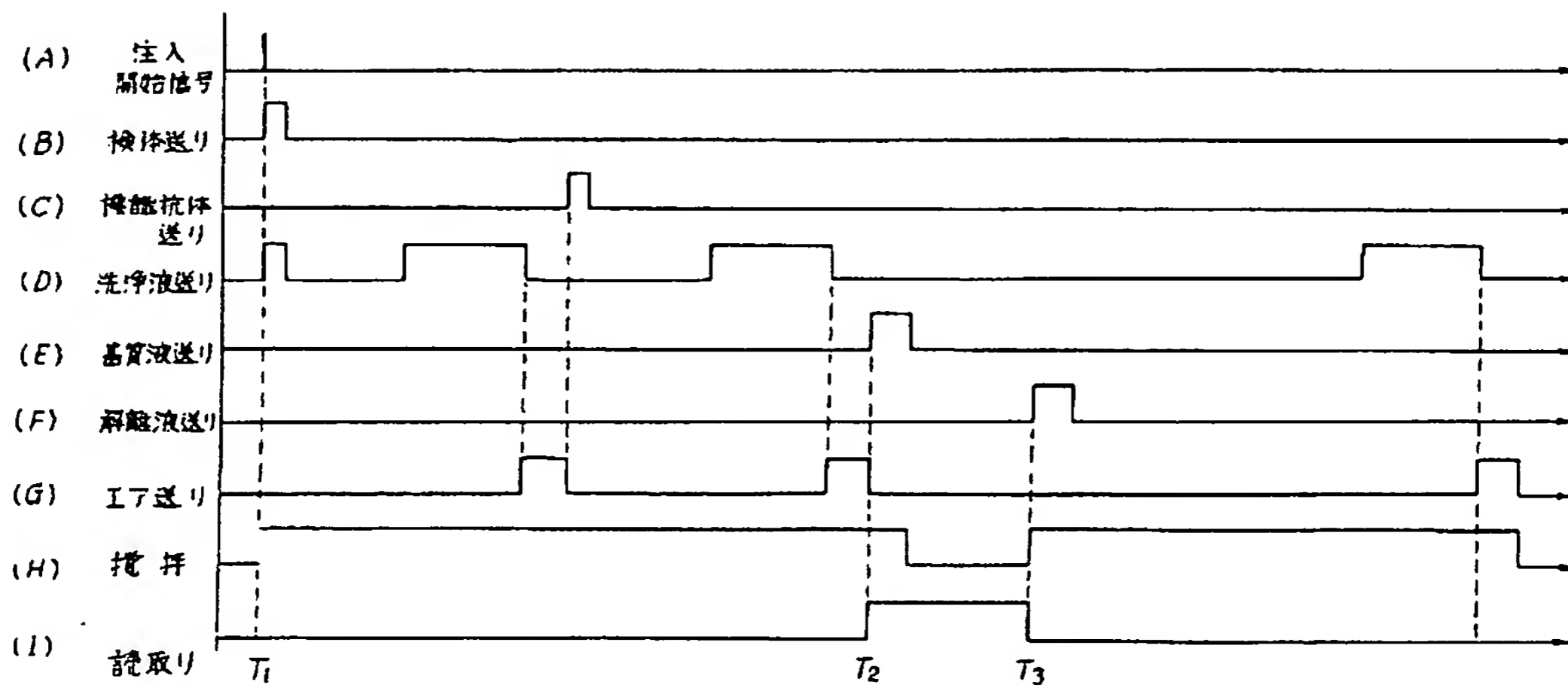
第 8 図



第 10 図



第 11 図



第 12 図